

УВАГА! ЗМІНА СКЛАДУ НАБОРУ!



Інструкція з використання набору реагентів для визначення кількості загального і прямого білірубину в сироватці або плазмі крові БІЛІРУБІН по Йєндрашіку СпЛ

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Принцип методу

Діазотована сульфанілова кислота в присутності кофеїну утворює з прямим і непрямим білірубіном азобілірубін рожево-фіолетового кольору. Інтенсивність кольору пропорційна концентрації загального білірубину у зразку. У відсутності кофеїнового реактива в реакцію вступає тільки прямий білірубін. Концентрацію непрямого білірубину можна визначити за різницею між загальним та прямим білірубіном.

Клінічне значення

Білірубін представляє собою продукт розпаду гемоглобіну, який транспортується від селезінки до печінки та екскретується в жовчні протоки. Гіпербілірубінемія є результатом збільшення концентрації білірубину у плазмі.

Причини гіпербілірубінемії: Загальний білірубін. Збільшення гемолізу, генетичні порушення, неонатальна жовтяниця, неефективний еритропоез та лікарські препарати.

Прямий білірубін. Холестаз печінки, генетичні та гепатоклітинні порушення.

Клінічний діагноз не повинен базуватися на одному показникові, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. **Реагент 1.** Сульфанілова кислота - 30 mmol/l (ммоль/л), соляна кислота - 400 mmol/l (ммоль/л).
2. **Реагент 2.** Нітрит натрію - 50 mmol/l (ммоль/л).
3. **Реагент 3.** Кофеїн - 100 mmol/l (ммоль/л).
4. **Білірубін калібратор** 1 фл
5. Інструкція з використання.
6. Паспорт.

Аналітичні характеристики

1. Лінійність вимірювального діапазону: 3.4-340 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л). Відхилення від лінійності не перевищує 5%. Якщо отримані результати були більше, ніж межі лінійності, розведіть зразки 1:1 (в два рази) NaCl 9 g/l (г/л) та помножьте результат на два.
2. Чутливість не менш 3.4 $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л).
3. Коефіцієнт варіації результатів визначень – не більш 5%.

Матеріал для дослідження

Сироватка або плазма крові. Досліджувані сироватки або плазми повинні бути ретельно відокремлені від формених елементів крові не пізніше, ніж через 1 h (год) після взяття крові. Уникайте використання мутних, ліпідних та гемолітичних зразків. Захищати зразки від впливу сонячного світла.

Перелік необхідного устаткування

- Спектрофотометричне або колориметричне обладнання з довжиною хвилі 540 nm (нм).
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 cm (см).
- Загальне лабораторне обладнання.

Підготовка реагентів

Перед використанням набір витримати при кімнатній температурі протягом 30 min (хв).

Діазосуміш (ДС): необхідно готувати безпосередньо перед роботою. Змішати P1 та P2 у співвідношенні 100:3.

Увага! Наявність незначного жовтого забарвлення в Діазосуміші не впливає на результати досліджень.

РЗ готовий до використання.

Білірубін Калібратор: Флакон запечатаний при низькому тиску, розкривати акуратно, щоб уникнути розпилення порошку ліофілізату. Додати до флакону 2 ml (мл) дистильованої води температурою 20-25°C. Закрити флакон кришкою, витримати при кімнатній температурі впродовж 30 min (хв) в захищеному від світла місці. Перемішати, обертаючи флакон кілька разів, уникаючи утворення піни.

Проведення аналізу

1. Умови вимірювання:

довжина хвилі 540 nm (нм)

кювета з товщиною оптичного шару 1 cm (см)

температура 15-25°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних у таблиці.

	Білірубін загальний	Білірубін прямий	Холостий зразок (загальний + прямий)
Дослідний зразок/Калібратор, ml (мл)	0.5	0.5	0.5
РЗ , ml (мл)	1.75	-	-
NaCl 9 g/l (г/л), ml (мл)	-	1.75	2.0
ДС , ml (мл)	0.25	0.25	-

Визначенні прямого білірубину:

інкубувати протягом 5 min (хв) при кімнатній температурі 15-25° C.

Необхідно провести вимірювання точно через 5 min (хв) після внесення діазосуміші, так як при тривалому стоянні в реакцію вступає непрямий білірубін.

Визначенні загального білірубину:

інкубувати протягом 20 min (хв) при кімнатній температурі 15-25° C. Провести вимірювання.

Прим. Об'єми реагенту, стандарту та зразку можуть бути пропорційно змінені відповідно до робочого об'єму кювети використовуваного аналізатора.

4. Виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка та калібратора проти відповідної холостої проби.

Примітки:

1. Для визначення білірубину у новонароджених розведіть зразок в чотори рази фізіологічним розчином (1:3). Результат помножити на 4.

Розрахунок результатів

Визначення загального білірубину.

Для приготування калібрувальних розчинів зробить розведення Білірубін Калібратору, як вказано в таблиці.

№ пробірки	Білірубін Калібратор, ml (мл)	0.9% розчин натрію хлориду, ml (мл)	Концентрація білірубін калібратору, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л)
1	0.1	0.9	0.1 x a
2	0.2	0.8	0.2 x a
3	0.3	0.7	0.3 x a
4	0.4	0.6	0.4 x a
5	0.5	0.5	0.5 x a

a- концентрація білірубину, яка вказана на етикетці флакону.

Визначте концентрацію загального білірубину в дослідних зразках за допомогою:

1. Калібрувальна крива. Побудуйте калібрувальну криву, визначте концентрацію загального білірубину в дослідних зразках.

2. Фактор перерахунку. Обчислить фактор перерахунку для кожного розведення Білірубін Калібратору та визначте середнє значення фактору:

$$F = \frac{C_{\text{кал}}}{E_{\text{кал}}}$$

Розрахуйте концентрацію загального білірубіну в досліджуваній пробі:

$$C_{\text{досл}} = E_{\text{досл}} \times F$$

де: F – фактор перерахунку

$C_{\text{кал}}$ - концентрація Білірубін Калібратор, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л).

$E_{\text{кал}}$ - оптична щільність Білірубін Калібратор, оптичних одиниць.

$C_{\text{досл}}$ - концентрація досліджуваного зразка, $\mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л).

$E_{\text{досл}}$ - оптична щільність досліджуваного зразка, оптичних одиниць.

Визначення прямого білірубіну.

При визначенні прямого білірубіна рекомендується використовувати «Калібратор CFAS» (Іспанія).

Увага! Калібрувальний графік та фактор перерахунку перевіряють після зміни кожного реактиву, але не рідше одного разу на 3 mth (міс).

Референтні величини

Грунтуючись на результатах досліджень, проведених лабораторіями, рекомендуємо користуватися нормами, приведеними нижче. Разом з тим, відповідно до правил GLP (Гарної лабораторної практики), кожна лабораторія повинна сама визначити для себе параметри норми, характерні для обстежуваної популяції.

Нормальний рівень білірубіну в сироватці або плазмі крові становить:

Білірубін загальний до $18.81 \mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л) = 11 mg/l (мг/л)

Білірубін прямий до $4.27 \mu\text{mol/l}$ (мкмоль/л) = 2.5 mg/l (мг/л)

Перехід в додаткові одиниці: $\text{mg/l (мг/л)} \times 1.71 = \mu\text{mol/l (мкмоль/л)}$

Відтворюваність

Загальний Білірубін	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	1,16	4,21	1,15	4,27
SD	0,02	0,04	0,02	0,13
CV, %	2,03	1,06	1,91	3,10

Прямий Білірубін	Внутрисерійна (n=20)		Міжсерійна (n=20)	
Значення, mg/dl (мг/дл)	0,78	2,28	0,80	2,18
SD	0,01	0,01	0,01	0,03
CV, %	1,28	0,65	1,63	1,53

Порівняння методів

Точність: результати отримані при використанні реагентів СпайнЛаб (y), при порівнянні з іншими комерційними реагентами (x) систематичних відхилень не виявлено.

Порівняння було проведено на 50 зразках.

Результати:

ЗАГАЛЬНИЙ БІЛІРУБІН

Коефіцієнт кореляції (r)²: 0,9894

Рівняння регресії: $y=0,9832x + 0,0224$

ПРЯМИЙ БІЛІРУБІН

Коефіцієнт кореляції (r)²: 0,9867

Рівняння регресії: $y=0,9923x + 0,0048$

Результати характеристик точності залежать від аналізатору, що використовується.

Специфічність

Гемоліз спричиняє зниження значення білірубіну.

Контроль якості

Контроль якості рекомендується здійснювати, використовуючи наступний контрольний матеріал: «СпЛ Контроль НОРМА» («Лабораторія Гранум», Україна); «SPINTROL N, P» (Іспанія), «Serodos», «HumaTrol» (Huma, Німеччина). Якщо значення контролю виходять за межі встановленого діапазону,

перевірте апаратуру, реактиви та можливі технічні проблеми. Кожна лабораторія повинна встановити свої власні схеми контролю якості та коригуючі дії, якщо контроль не відповідає допустимим нормам.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не використовувати реактиви після закінчення терміну придатності 12 mth (міс).

Вимоги безпеки та утилізації

1. **P1** їдка речовина. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.

Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.

Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

Ознаки погіршення реагентів

- Присутність часток і помутніння.
- В **P2** розвивається колір.

Комплектація

	Кат. № 5.012	Кат. № 5.013
Вміст	110 визн.	300 визн.
P1	1 x 50 ml (мл)	1 x 100 ml (мл)
P2	1 x 5 ml (мл)	1 x 5 ml (мл)
P3	1 x 100 ml (мл)	1 x 270 ml (мл)
P4	1 x 2 ml (мл)	1 x 2 ml (мл)



ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: granumlab@gmail.com

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер
серії  Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання		
 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне	
обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів			